

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03983

研究課題名（和文）てんかん関連複合体LG11-ADAM22-PSD-95とその制御因子の構造解析

研究課題名（英文）Structural analysis of the epilepsy-related protein complex LG11-ADAM22-PSD-95 and its regulatory factors

研究代表者

深井 周也（Fukai, Shuya）

京都大学・理学研究科・教授

研究者番号：10361792

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 33,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、てんかんに関連するLG11-ADAM22-PSD-95複合体の膜を介したシグナル伝達機構と病態発症の仕組みを理解することを目的として、複合体の立体構造解析を行った。X線結晶構造解析とX線小角散乱解析、クライオ電子顕微鏡を組合せた相関構造解析によって、LG11とADAM22の相互作用様式の詳細を明らかにした。さらに、病態発症機構が不明であったLG11の変異が、LG11-ADAM22の高次会合体形成に異常を引き起こすことをマウスモデルにより示した。また、LG11-ADAM22によるPSD-95の分子凝縮や14-3-3タンパク質によるADAM22の分解抑制の分子機構の解明に貢献した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

てんかんの原因となる分子LG11とその受容体であるADAM22が結合した状態の立体構造を決定することで、LG11を介してADAM22ファミリーのタンパク質が神経細胞間の橋渡しをする様子を明らかにし、これまでに知られていたLG11の変異の中で発症の仕組みが不明であった変異に関して、新たな発症の仕組みを明らかにした。また、神経細胞間の信号伝達に必要な細胞内タンパク質PSD-95の集合状態をADAM22が制御する仕組みや14-3-3タンパク質がADAM22の量を調節する仕組みの理解にも貢献した。これらは、てんかん病態とそれに関連する神経活動の分子機構に関わる今後の研究に役立つ知見になると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the three-dimensional structure of the epilepsy-associated protein complex LG11-ADAM22-PSD-95 to understand the mechanism of signal transduction through the membrane and pathogenesis. We revealed the details of the interaction mode between LG11 and ADAM22 by the integrated structure analysis combining X-ray crystallography, X-ray small-angle scattering analysis, and cryo-electron microscopy. Furthermore, we showed that a mutation in LG11 whose pathogenic mechanism was unknown causes abnormalities in the formation of higher-order assembly of LG11-ADAM22, using a mouse model. In addition, we contributed to the elucidation of the molecular mechanism underlying the molecular condensation of PSD-95 induced by LG11-ADAM22 and the regulation of the amount of ADAM22 by 14-3-3 protein.

研究分野：構造生物化学

キーワード：構造生物学 分子間相互作用 膜受容体 てんかん 足場タンパク質 パルミトイル化

### 1. 研究開始当初の背景

脳を構成する神経細胞は、シナプスと呼ばれる信号伝達に特化した細胞接着構造を介して接続されて回路を形成する。神経の活動には、シナプスで機能する多様な膜受容体複合体が重要な役割を担っており、その機能異常は神経関連疾患を引き起こす。本研究では、てんかんや痙攣に関連するリガンド-膜受容体複合体 LGI1-ADAM22 に焦点を当てた。

分泌タンパク質 LGI1 は、家族性側頭葉てんかんの原因遺伝子産物であり、その欠損や自己抗体の発現により致命的なてんかん症状を引き起こす。LGI1 はシナプスに局在する一回膜貫通型の膜受容体 ADAM22 と相互作用し、さらに、細胞内の足場タンパク質 PSD-95 を介してイオン透過型グルタミン酸受容体である AMPA 受容体の補助因子 Stargazin と相互作用する (図 1)。Stargazin は AMPA 受容体の細胞内局在やイオン透過能を制御しており、これら一連の相互作用の異常がてんかん病態の発症に関連していると考えられている。ADAM22 の細胞外領域、PSD-95 の各ドメイン (PDZ1-2、PDZ3、SH3-GuK) の三次元構造は決定されていたが、LGI1 の三次元構造は未決定であった。また、Stargazin は、AMPA 受容体との複合体のクライオ電顕像が報告されていたが、「細胞外での LGI1 と ADAM22 との相互作用が膜貫通ヘリックスを介して細胞内にシグナルを伝達する仕組み」や「ADAM22 との結合や N 末の脂質修飾が PSD-95 の各ドメインの配置・配向を変化させて Stargazin へとシグナルを伝える仕組み」は明らかになっていなかった。

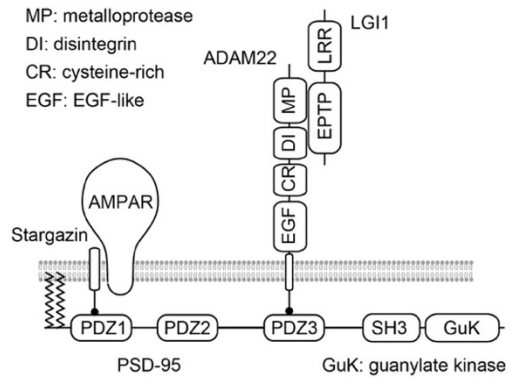


図 1 LGI1-ADAM22-PSD-95-Stargazin.

### 2. 研究の目的

本研究では、てんかんや痙攣に関連するリガンド-膜受容体複合体 LGI1-ADAM22-PSD-95-Stargazin の三次元構造解析により、膜を介したシグナル伝達機構と病態発症の仕組みを理解して、将来的な疾患の予防や改善の基礎となる分子構造基盤を確立することを目的とした。

### 3. 研究の方法

高等動物由来の膜受容体の構造解析には、高等動物細胞などでの発現、精製と性状評価などに高度な技術と経験を要する。本研究では、ヒト培養細胞の浮遊培養と高発現ベクターを利用したタンパク質生産と多角度レーザー光散乱などを利用した性状評価などの技術基盤を活用し、X 線結晶構造解析や X 線小角散乱、クライオ電子顕微鏡などを組合せた相関構造解析を行った。また、生理研・深田正紀教授・深田優子准教授の研究グループとの共同研究で *in vitro* および細胞・個体レベルでの部位特異的変異体の機能解析を行うことにより立体構造から予測される分子機構の裏付けや新たなメカニズムの提案を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) LGI1 と ADAM22 との複合体の立体構造解析

分泌性のリガンドタンパク質である LGI1 (分子量 64 kDa) は二つのドメインで構成される。N 末端側のドメインは 4 つのロイシンリッチリピート (LRR) で構成され、C 末端側のドメインは Epitempin リピート (EPTP) と呼ばれる 7 回繰返しの  $\beta$  プロペラ様構造を持つと予測されていた。二つのドメインは 3 アミノ酸残基程度のジャンクションで繋がっている。一方の ADAM22 (分子量 95 kDa) は一回膜貫通型の膜タンパク質であり、プロセッシングにより切断されるプロドメインに続いて、メタロプロテアーゼ様ドメイン、disintegrin ドメイン、システインリッチドメイン、EGF 様ドメインを細胞外領域に持つ。これら 4 つのドメインは互いに相互作用することで、安定な構造を持つ一つのユニットを形成する。膜貫通ヘリックスの後の細胞内領域は、構造的自由度の高い短いテール領域となっており、C 末の 4 残基のアミノ酸が PSD-95 の PDZ ドメインに認識される。

X 線結晶構造解析と多角度光散乱解析、X 線小角散乱解

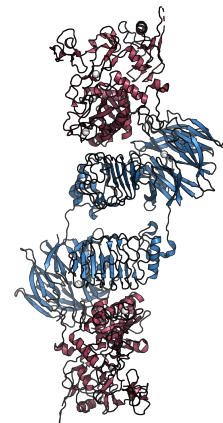


図 2 LGI1 と ADAM22 細胞外ドメインとの複合体の結晶構造

析、クライオ電子顕微鏡を組み合わせた相関構造解析により、LGI1 の EPTP ドメインと ADAM22 のメタロプロテアーゼ様ドメインとの相互作用様式を原子レベルで明らかにするとともに、二分子の LGI1 間の相互作用を介して 2:2 もしくは 3:3 の高次の会合体を形成することを示した(図 2)。てんかん病態発症のメカニズムが不明であった LGI1 の変異が、この高次会合体形成に異常を引き起こすことを *in vitro* の相互作用解析とマウスモデルにより示した。以上の結果は、LGI1 と ADAM22 がシナプス間隙を跨いで相互作用することでシナプス前終末と後終末とを機能的に繋ぐ役割を担うことを示唆していた (Yamagata *et al.*, *Nat. Commun.*, 2018)。てんかん病態を生じる新たな分子機構を提案することができた。今後は、3:3 の高次会合体の機能的役割を明らかにするための機能解析・構造解析を進める。

## (2) PSD-95 の立体構造解析

PSD-95 は、N 末端からタンデムにつながった 3 つの PDZ ドメインとそれに続く C 末端の SH3-グアニル酸キナーゼ (GuK) ドメインで構成される。ADAM22 および Stargazin の C 末端ペプチドがそれぞれ PSD-95 の 3 番目と 1 番目の PDZ ドメインに結合する(図 1)。また、PSD-95 の機能には、N 末端領域のシステイン残基への脂質修飾 (パルミトイル化) が必須である。ADAM22 や Stargazin の PDZ ドメインへの結合やパルミトイル化による全体構造の変化 (各ドメインの相対的な配置や配向の変化) を X 線結晶構造解析と NMR を併用して解析することを計画した。しかし、ヒト培養細胞の発現系によるパルミトイル化 PSD-95 の調製が想定以上に困難であったことに加えて、所属機関の異動や新型コロナウイルス感染対策のために実験が制限されたこともあり、計画通りには研究が進捗しなかった。パルミトイル化を受けていない PSD-95 全長の結晶化等の試みも上手くいかなかった。一方で、共同研究者の深田教授らは、LGI1-ADAM22-PSD-95 の複合体形成が、液-液層分離 (LLPS) による PSD-95 のシナプス後部での凝縮に必要であることを見出した。この知見をサポートするために、PSD-95 の 3 番目の PDZ ドメイン (PDZ3) に ADAM22 の C 末端の PDZ 結合モチーフを融合させたタンパク質の結晶構造を決定して、PDZ3 による ADAM22 の PDZ 結合モチーフの認識機構を明らかにした (Fukata *et al.*, *PNAS*, 2021; 図 3)。ADAM22 がシナプス膜を超えて細胞内へとシグナルを伝える分子機構の一端が明らかになった。LGI1-ADAM22 の高次会合体形成が PSD-95 の凝縮を誘導するメカニズムについては、神経細胞やそれに似た膜環境下での構造解析を進めることを計画している。

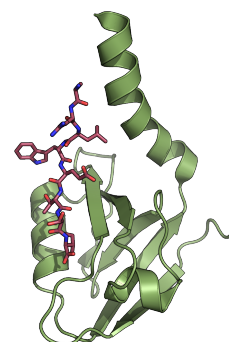


図 3 ADAM22 C 末端ペプチドと PSD-95 PDZ3 との融合体の結晶構造

## (3) PSD-95 の脂質修飾に関連する酵素の立体構造解析

PSD-95 のパルミトイル化は可逆的であり、その機能を制御する。膜タンパク質である DHHC ファミリーと膜にアンカーされる ABHD ファミリーのタンパク質が、それぞれパルミトイル化と脱パルミトイル化の反応を担う。これらの反応機構の詳細を明らかにすることを目的として、この二つのファミリーの結晶構造解析を計画したが、申請書が採択される以前に DHHC タンパク質の結晶構造が *Science* 誌に報告された。そのため、本研究では PSD-95 を基質とする脱パルミトイル化酵素 ABHD17 ファミリーを研究対象とし、立体構造決定のために結晶化を試みた。ABHD17 は PSD-95 と同様に N 末端のシステインクラスターにパルミトイル化を受ける。細胞内での PSD-95 のパルミトイル化には、ABHD17 自身のパルミトイル化が必須である。そこで、ヒト培養細胞や昆虫細胞での発現実験を行ったが、構造解析に必要な質と量の ABHD17 を調製することは困難であった。一方、N 末端のシステインクラスターを除いた ABHD17 を大腸菌で発現させると構造解析に十分な量の ABHD17 を調製することが可能であった。研究期間内には哺乳類由来のタンパク質 (ABHD17A、B および C) と線虫由来のタンパク質 (AHO-3) の結晶化を試みたが、結晶は得られなかった。分子量の大きい結合分子との複合体を形成させた状態でのクライオ電子顕微鏡単粒子解析であれば立体構造を決定できる可能性はあるが、基質となるパルミトイル化 PSD-95 の調製が大きな課題である。

## (4) ADAM22 と 14-3-3 タンパク質との複合体の立体構造解析

当初に計画していたパルミトイル化 PSD-95 の調製が想定以上に困難であったこと、また、PSD-95 の脱パルミトイル化酵素 ABHD17 の結晶化も困難であったことを受けて、ADAM22 の機能発現に重要なシグナル伝達調節タンパク質である 14-3-3 の研究を追加した。共同研究者の深田教授らは、14-3-3 が二重にリン酸化された ADAM22 と細胞内で強く結合して ADAM22 をシナプス膜上に安定に保持する役割を担うことを見出した。そこで、14-3-3 と ADAM22 の二重リン酸化ペプチドとの複合体の立体構造決定によって、その相互作用作用機構を明らかに

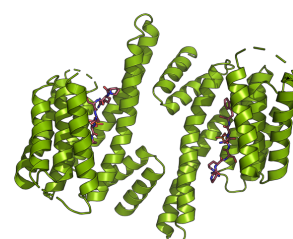


図 4 ADAM22 二重リン酸化ペプチドと 14-3-3ζ との複合体の結晶構造

した (図 4)。また、等温滴定型カロリメトリー測定を行い、一箇所のリン酸化をもつ ADAM22 ペプチドと比較して、二重にリン酸化されたものは 200 倍以上の結合親和性を持つことを示した (Yokoi *et al.*, *Cell Rep.*, 2021)。

14-3-3 とリン酸化領域との相互作用は、真菌が生産する有機化合物 fusicoccin (FC) の影響を受けることが一般的に知られている。ADAM22 のリン酸化ペプチドとの結合状態で生じる間隙を埋めるように FC が結合すると 14-3-3 と ADAM22 との親和性が増加する。FC 誘導体によって ADAM22 のシナプス膜上での安定性を向上させることでてんかん病態を改善する可能性を考慮して、三者複合体を形成しうる FC 誘導体の探索とその誘導体を含む三者複合体の結晶構造解析を行うことを考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Uemura Takeshi, Suzuki-Kouyama Emi, Kawase Shiori, Kurihara Taiga, Yasumura Misato, Yoshida Tomoyuki, Fukai Shuya, Yamazaki Maya, Fei Peng, Abe Manabu, Watanabe Masahiko, Sakimura Kenji, Mishina Masayoshi, Tabuchi Katsuhiko	4. 巻 39
2. 論文標題 Neurexins play a crucial role in cerebellar granule cell survival by organizing autocrine machinery for neurotrophins	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 110624 ~ 110624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2022.110624	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yokoi Norihiko, Fukata Yuko, Okatsu Kei, Yamagata Atsushi, Liu Yan, Sanbo Makoto, Miyazaki Yuri, Goto Teppei, Abe Manabu, Kassai Hidetoshi, Sakimura Kenji, Meijer Dies, Hirabayashi Masumi, Fukai Shuya, Fukata Masaki	4. 巻 37
2. 論文標題 14-3-3 proteins stabilize LGI1-ADAM22 levels to regulate seizure thresholds in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 110107 ~ 110107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.110107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshida T, Yamagata A, Imai A, Kim J, Izumi H, Nakashima S, Shiroshima T, Maeda A, Iwasawa-Okamoto S, Azechi K, Osaka F, Saitoh T, Maenaka K, Shimada T, Fukata Y, Fukata M, Matsumoto J, Nishijo H, Takao K, Tanaka S, Okabe S, Tabuchi K, Uemura T, Mishina M, Mori H, Fukai S.	4. 巻 12
2. 論文標題 Canonical versus non-canonical transsynaptic signaling of neuroligin 3 tunes development of sociality in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-22059-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fukata Yuko, Chen Xiumin, Chiken Satomi, Hirano Yoko, Yamagata Atsushi, Inahashi Hiroki, Sanbo Makoto, Sano Hiromi, Goto Teppei, Hirabayashi Masumi, Kornau Hans-Christian, Pr?ss Harald, Nambu Atsushi, Fukai Shuya, Nicoll Roger A., Fukata Masaki	4. 巻 118
2. 論文標題 LGI1-ADAM22-MAGUK configures transsynaptic nanoalignment for synaptic transmission and epilepsy prevention	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2022580118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2022580118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fukai Shuya, Yoshida Tomoyuki	4. 巻 n/a
2. 論文標題 Roles of type IIa receptor protein tyrosine phosphatases as synaptic organizers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 n/a
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.15666	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 深井 周也	4. 巻 92
2. 論文標題 シナプス接着分子群の構造基盤の最前線	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 166 ~ 178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920166	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Goto-Ito Sakurako, Morooka Nobukatsu, Yamagata Atsushi, Sato Yusuke, Sato Ken, Fukai Shuya	4. 巻 2
2. 論文標題 Structural basis of guanine nucleotide exchange for Rab11 by SH3BP5	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 e201900297
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lisa.201900297	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Atsushi Yamagata & Shuya Fukai	4. 巻 77
2. 論文標題 Insights into the mechanisms of epilepsy from structural biology of LGI1-ADAM22	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Life Sciences	6. 最初と最後の頁 267-274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00018-019-03269-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wakita Maiko, Yamagata Atsushi, Shiroshima Tomoko, Izumi Hironori, Maeda Asami, Sendo Mizuki, Imai Ayako, Kubota Keiko, Goto-Ito Sakurako, Sato Yusuke, Mori Hisashi, Yoshida Tomoyuki, Fukai Shuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Structural insights into selective interaction between type IIa receptor protein tyrosine phosphatases and Liprin-	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-14516-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamagata, A., Miyazaki, Y., Yokoi, N., Shigematsu, H., Sato, Y., Goto-Ito, S., Maeda, A., Goto, T., Sanbo, M., Hirabayashi, M., Shirouzu, M., Fukata, Y., Fukata, M., Fukai, S.	4. 巻 9
2. 論文標題 Structural basis of epilepsy-related ligand-receptor complex LGI1-ADAM22	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1546
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-03947-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamagata, A., Fukai, S.	4. 巻 54
2. 論文標題 Structural insights into leucine-rich repeat-containing synaptic cleft molecules	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Opinion in Structural Biology	6. 最初と最後の頁 68-77
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sbi.2019.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Yamagata, A., Goto-Ito, S., Sato, Y., Shiroshima, T., Maeda, A., Watanabe, M., Saitoh T., Maenaka, K., Terada, T., Yoshida, T., Uemura, T., Fukai, S.	4. 巻 9
2. 論文標題 Structural insights into modulation and selectivity of transsynaptic neurexin-LRRTM interaction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sbi.2019.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 深井 周也
2. 発表標題 シナプス接着分子によるシナプス形成調節の分子機構
3. 学会等名 第48回生体分子科学討論会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深井 周也
2. 発表標題 受容体タンパク質チロシン脱リン酸化酵素 PTP によるシナプス分化誘導 の構造基盤
3. 学会等名 2021年度 生理研研究会 機能的神経回路の構築と動作を支える分子細胞基盤 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深井 周也
2. 発表標題 シナプスオーガナイザーの選択的相互作用の構造基盤
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 深井 周也
2. 発表標題 Structural insights into transsynaptic molecular interactions for synapse formation and function
3. 学会等名 The 5th Symposium of Neuroscience Network in Kobe (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 田中 啓二、若槻 壮市	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 248
3. 書名 イメージング時代の構造生命科学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>社会性の発達を調節する新たな機構を発見  <a href="https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2021-03-26-1">https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2021-03-26-1</a>          神経シナプス間の軸調整を担う分子群を発見 新たなてんかん病態を解明  <a href="https://www.nips.ac.jp/release/2021/01/post_426.html">https://www.nips.ac.jp/release/2021/01/post_426.html</a>          神経細胞間の信号伝達を担う接着構造を形成する仕組みの解明  <a href="https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/press/z0207_00023.html">https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/press/z0207_00023.html</a>          てんかんの原因タンパク質が神経細胞間の橋渡しをする仕組みを解明  <a href="http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/press_release/180418/">http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/press_release/180418/</a>          神経発達障害に関連する細胞接着分子がカルシウムイオンを介して神経細胞同士を適切につなぐ仕組みの解明  <a href="http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/press_release/180927/">http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/press_release/180927/</a></p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	深田 正紀  (Fukata Masaki)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	深田 優子  (Fukata Yuko)		
研究協力者	尾勝 圭  (Okatsu Kei)		
研究協力者	山形 敦史  (Yamagata Atsushi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関